



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109116029 A

(43)申请公布日 2019.01.01

(21)申请号 201810807410.5

(22)申请日 2018.07.21

(71)申请人 福建医科大学

地址 350004 福建省福州市台江区交通路
88号

(72)发明人 刘爱林 连芯 刘萌萌 雷云
彭花萍 陈伟 林新华

(74)专利代理机构 福州智理专利代理有限公司
35208

代理人 王义星

(51)Int.Cl.

G01N 33/66(2006.01)

B01L 3/00(2006.01)

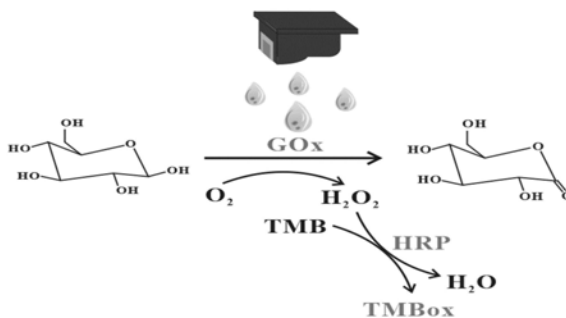
权利要求书1页 说明书10页 附图6页

(54)发明名称

一种基于喷墨打印技术可控性制作纸基微流控芯片用于葡萄糖定量检测的方法

(57)摘要

本发明公开一种基于喷墨打印技术可控性制作纸基微流控芯片用于葡萄糖定量检测的方法。利用喷墨打印技术具有精准控制墨滴体积、重复性高、可灵活设计图案等特性,结合易加工、微型化、便携化的纸基微流控芯片技术及葡萄糖氧化酶能够专一催化葡萄糖的反应特点,将GOx-HRP-TMB-H₂O₂双酶显色体系通过喷墨打印机可控集成在纸芯片上反应。显色后用喷墨打印机扫描成像,再通过Adobe Photoshop CS6、Image J 2X等软件进行灰度分析与数据处理,从而建立了一种快速准确、高灵敏的葡萄糖定量检测的新方法,并用于人体血清中葡萄糖的定量检测。本发明对糖尿病的临床医学诊断、治疗评估、预后判断等具有较为重要的实际意义。



1. 一种基于喷墨打印技术可控性制作纸基微流控芯片用于葡萄糖定量检测的方法,其特征在于,该纸基微流控芯片以滤纸为基底,通过对压电式喷墨打印机的墨盒进行清洗改造,能可控性制作纸基微流控芯片,并在相应墨盒中装入葡萄糖反应底物,能可控性打印到纸基微流控芯片上进行显色反应,并通过比色法实现葡萄糖检测。

2. 如权利要求1所述的一种基于喷墨打印技术可控性制作纸基微流控芯片用于葡萄糖定量检测的方法,其特征在于,首先利用打印机的颜色墨水代替样品为模型研究样品打印规律,包括单色打印规律,双色打印规律及四色打印规律的研究。

3. 如权利要求2所述的一种基于喷墨打印技术可控性制作纸基微流控芯片用于葡萄糖定量检测的方法,其特征在于,以颜色墨水代替样品为模型研究得到的样品打印规律是:单种颜色通过不透明度或灰度值能实现可调控打印;两种颜色通过不透明度进行任意配比能实现可调控打印;三种及三种以上颜色进行混合配比,其实质是三种及三种以上颜色的独立个体进行配比,能实现样品可调控打印。

4. 如权利要求1所述的一种基于喷墨打印技术可控性制作纸基微流控芯片用于葡萄糖定量检测的方法,其特征在于,反应底物葡萄糖通过压电式喷墨打印机调控不透明度或灰度能可控性打印在纸基微流控芯片上,而反应结果也是通过喷墨打印机的扫描功能扫描完成图像采集。

5. 如权利要求1-4任一所述的一种基于喷墨打印技术可控性制作纸基微流控芯片用于葡萄糖定量检测的方法,包括以下步骤:

(1) 黑色墨盒、彩色墨盒改装:将黑色墨盒的黑色墨水槽中的海绵去掉后用清水充分清洗干净,将彩色墨盒的青色墨水槽、黄色墨水槽、洋红色墨水槽中的海绵去掉后用清水充分清洗干净;(2) 血清样品的预处理;(3) 将装入墨盒中已预处理的血清样品和葡萄糖氧化酶反应产生的 H_2O_2 溶液通过压电式喷墨打印机打印到纸基微流控芯片上,与滴涂在纸基微流控芯片上的HRP-TMB产生显色反应,而能定量检测葡萄糖。

6. 如权利要求5所述的一种基于喷墨打印技术可控性制作纸基微流控芯片用于葡萄糖定量检测的方法,其特征在于,检测步骤如下:

(1) 单色单样品调控:将葡萄糖与葡萄糖氧化酶反应产生的 H_2O_2 溶液装入改装后的黑色墨盒中,利用Adobe Illustrator CS6软件设置梯度灰度实现可控性打印 H_2O_2 溶液到纸芯片上,且使 H_2O_2 -HRP-TMB显色体系集成在纸芯片上,通过颜色变化实现葡萄糖定量检测;(2) 四色四个样品调控:将葡萄糖与葡萄糖氧化酶反应产生的 H_2O_2 溶液装入青色墨水槽中,PB缓冲液、HRP、TMB分别装入黑色、黄色、洋红色墨水槽,利用 Adobe Illustrator CS6软件改变CMYK值实现可控性打印纸芯片上,且使 H_2O_2 -HRP-TMB显色体系集成在纸芯片上,通过颜色变化实现葡萄糖定量检测。

7. 如权利要求1-6任一所述的一种基于喷墨打印技术可控性制作纸基微流控芯片用于葡萄糖定量检测的方法,其特征在于,调控装有单个葡萄糖样品的单色墨盒时,随着葡萄糖浓度增加,显色强度逐渐增强,在 $2.5 \text{ mmol/L} \sim 20 \text{ mmol/L}$ 范围内,葡萄糖浓度 C 与显色强度 I 呈良好的线性关系,线性回归方程为 $I = 2.6995 C + 1.4626, R^2 = 0.9973$;调控一个黑色墨盒和一个彩色墨盒相应装入四个样品时,随着墨盒中葡萄糖浓度增加,显色强度逐渐增强,在 $2.5 \text{ mmol/L} \sim 20 \text{ mmol/L}$ 范围内,葡萄糖浓度 C 与显色强度 I 呈良好的线性关系,线性回归方程为 $I = 3.2224 C + 19.3983, R^2 = 0.9307$ 。

一种基于喷墨打印技术可控性制作纸基微流控芯片用于葡萄糖定量检测的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种基于喷墨打印技术可控性制作纸基微流控芯片用于葡萄糖定量检测的方法,属于检测技术领域,该纸芯片能够用于人体血清中葡萄糖的检测。

背景技术

[0002] 20世纪80年代,由于微观加工技术的发展,微全分析系统“ μ TAS”(又称芯片实验室“Lab-on-chip”)在微型化的趋势下应运而生。分析系统的小型化带来了显著减少的样品体积和更低的试剂消耗量,微流控芯片就是其中的一大类。所谓微流控芯片,是一种以微机电加工技术为基础,以微流道为网络连接微泵、微阀、微检测元件等微流控功能单元,通过对微流体的操纵和控制,最大限度的将采样、稀释、进样、反应、分离、检测等基本操作单元集成到一块很小的芯片上,从而可以取代常规化学或生物实验室各种功能的一种技术平台。至今,微流控芯片已经成为一个独立的科学领域,并逐渐在化学、生物和医药领域发挥着愈来愈重要的作用。而在众多微流控芯片制作材料中,纸基芯片更是以其独特的优势在微流控芯片领域绽放着光彩。

[0003] 2007年,纸基微流控芯片(Paper-based microfluidics)或微流控纸基分析设备(Microfluidic paper-based analytical devices, μ PADs)(简称纸芯片)的概念首次由Whitesides课题组提出,至此,微流控纸芯片进入人们的视野并开始被广泛研究。不同于传统的微流控芯片材料(如玻璃、石英、硅、高聚合物等),纸因其本身的自然性质而拥有众多其它材料无可比拟的优势:①纸张来源丰富,可以进行批量生产;②试剂消耗量少,成本低;③纸张由纤维素组成,具有良好的生物相容性和生物降解性;④纸张可以通过毛细作用驱动流体采用层流方式流动,多孔性的结构允许流体在不同层纸间流动,不需要外加的驱动泵;⑤纸张易于图案化及设计形状;⑥纸一般为白色,可以与有颜色物质进行强烈对比而作为比色法检测的基底,而且纸张表面能进行化学修饰,从而与酶、小分子进行共价连接;⑦纸张便携易操作,甚至不需要专业的操作人员。因此,纸芯片为临床诊断、食品安全、环境监测提供了重要的平台,尤其是缺乏技术人员和医疗设备的边远地区。

[0004] 纸芯片的核心与创新点就在于芯片的设计制作,所以用功能化材料在纸基上制作设计好的图案已经获得了极大的关注。而喷墨打印技术就是以它能够满足制作的需求以及自身独特的优势吸引了大家的注意力:①喷墨打印喷射出来的墨水液滴大小通常为皮升级别,消耗样品量少,并且可以实现对液滴的精准控制以及具备高的重复性;②喷墨打印技术是一种非接触式打印方法,能保护基底不受破坏;③喷墨打印技术可以通过计算机图形软件灵活设计图案,适用于批量生产;④喷墨打印技术中的墨水除了可以用传统的染料替代以外,还可以用一系列材料替代,例如细胞、聚合物以及磁性材料等;⑤能够在同一区域进行重复多层打印,而且任何简单的台式喷墨打印机都能够以至少四个单独控制的墨盒同时打印多种试剂,并且可以通过调控不同的不透明度值来实现单种试剂不同量的打印以及多

种试剂不同比例的混合打印。正是因为这些优点,喷墨打印技术被广泛应用于电子设备、传感器以及生命科学领域。而将纸芯片与已经建立起来的喷墨打印功能型材料或生物材料相结合,为开发低经济成本、能在短时间内实现检测的设备提供了令人憧憬的前景。

[0005] 糖尿病是世界范围内的公共疾病,是严重威胁我国居民健康的四大类慢性病之一,也是引发多种疾病的独立危险因素。临床上主要表现为胰岛素缺乏引起的尿液及血液中葡萄糖含量的升高。由糖尿病引起的并发症有很多,如心脑血管疾病、尿毒症、肾衰竭、失明甚至威胁生命等。通过严格的个人血糖控制可以大大降低并发症的发生,也是治疗糖尿病的必要举措。然而,对于血清中生物标志物的检测,通常耗费大量的时间和成本,且耗样量大,因此,建立一种准确、快捷、敏感的血糖检测方法对于临床医学诊断与研究具有十分重要的实际意义。

[0006] 本发明公开一种基于喷墨打印技术可控性制作纸基微流控芯片用于葡萄糖定量检测的方法。利用喷墨打印技术可对墨滴(样品)实现精准控制、重复性高、可灵活设计图案等特性,结合易加工、微型化、便携化的纸基微流控芯片技术,及葡萄糖氧化酶能够专一地催化葡萄糖的反应的特点,将GOx-HRP-TMB-H₂O₂双酶显色体系通过喷墨打印机可控集成在纸芯片上反应,建立了一种快速准确、高灵敏的葡萄糖定量检测的新方法,并成功用于人体血清中葡萄糖的定量检测。

发明内容

[0007] 1. 本发明的目的在于提供一种基于喷墨打印技术可控性制作纸基微流控芯片用于葡萄糖定量检测的方法。

[0008] 本发明的目的是这样实现的,所述的一种基于喷墨打印技术可控性制作纸基微流控芯片用于葡萄糖定量检测的方法,其特征在于,该纸基微流控芯片以滤纸为基底,通过对压电式喷墨打印机的墨盒进行清洗改造,能可控性制作纸基微流控芯片,并在相应墨盒中装入葡萄糖反应底物,能可控性打印到纸基微流控芯片上进行显色反应,并通过比色法实现葡萄糖检测。

[0009] 首先利用打印机的颜色墨水代替样品为模型研究样品打印规律,包括单色打印规律,双色打印规律及四色打印规律的研究。

[0010] 以颜色墨水代替样品为模型研究得到的样品打印规律是:单种颜色通过不透明度或灰度值能实现可调控打印;两种颜色通过不透明度进行任意配比能实现可调控打印;三种及三种以上颜色进行混合配比,其实质是三种及三种以上颜色的独立个体进行配比,能实现样品可调控打印。

[0011] 反应底物葡萄糖通过压电式喷墨打印机调控不透明度或灰度能可控性打印在纸基微流控芯片上,而反应结果也是通过喷墨打印机的扫描功能扫描完成图像采集。

[0012] 本发明所述的一种基于喷墨打印技术可控性制作纸基微流控芯片用于葡萄糖定量检测的方法,包括以下步骤:

(1) 黑色墨盒、彩色墨盒改装:将黑色墨盒的黑色墨水槽中的海绵去掉后用清水充分清洗干净,将彩色墨盒的青色墨水槽、黄色墨水槽、洋红色墨水槽中的海绵去掉后用清水充分清洗干净;(2) 血清样品的预处理;(3) 将装入墨盒中已预处理的血清样品和葡萄糖氧化酶反应产生的H₂O₂溶液通过压电式喷墨打印机打印到纸基微流控芯片上,与滴涂在纸基微流

控芯片上的HRP-TMB产生显色反应,而能定量检测葡萄糖。

[0013] 本发明所述的一种基于喷墨打印技术可控性制作纸基微流控芯片用于葡萄糖定量检测的方法,其特征在于,检测步骤如下:

(1)单色单样品调控:将葡萄糖与葡萄糖氧化酶反应产生的 H_2O_2 溶液装入改装后的黑色墨盒中,利用Adobe Illustrator CS6软件设置梯度灰度实现可控性打印 H_2O_2 溶液到纸芯片上,且使 H_2O_2 -HRP-TMB显色体系集成在纸芯片上,通过颜色变化实现葡萄糖定量检测;(2)四色四个样品调控:将葡萄糖与葡萄糖氧化酶反应产生的 H_2O_2 溶液装入青色墨水槽中,PB缓冲液、HRP、TMB分别装入黑色、黄色、洋红色墨水槽,利用 Adobe Illustrator CS6软件改变CMYK值实现可控性打印纸芯片上,且使 H_2O_2 -HRP-TMB显色体系集成在纸芯片上,通过颜色变化实现葡萄糖定量检测。

[0014] 本发明所述的一种基于喷墨打印技术可控性制作纸基微流控芯片用于葡萄糖定量检测的方法,其特征在于,调控装有单个葡萄糖样品的单色墨盒时,随着葡萄糖浓度增加,显色强度逐渐增强,在2.5 mmol/L ~ 20 mmol/L范围内,葡萄糖浓度C与显色强度I呈良好的线性关系,线性回归方程为 $I = 2.6995 C + 1.4626, R^2 = 0.9973$;调控一个黑色墨盒和一个彩色墨盒相应装入四个样品时,随着墨盒中葡萄糖浓度增加,显色强度逐渐增强,在2.5 mmol/L ~ 20 mmol/L范围内,葡萄糖浓度C与显色强度I呈良好的线性关系,线性回归方程为 $I = 3.2224 C + 19.3983, R^2 = 0.9307$ 。

[0015] 2. 本发明所述的纸基微流控芯片,以滤纸为基底,通过对普通商用型的Canon MP 288压电式喷墨打印机进行改装,可控性制作芯片,并通过比色法实现对葡萄糖的检测。

[0016] 3. 本发明制作芯片的可控性在于通过调控CMYK值的不透明度或灰度值实现对样本物质的量的控制。

[0017] 4. 本发明所述的检测原理:(1)单色(单样品)调控:将葡萄糖与葡萄糖氧化酶反应产生的 H_2O_2 溶液装入改装后的黑色墨盒中,利用Adobe Illustrator CS6软件设置梯度灰度实现可控性打印 H_2O_2 溶液,使 H_2O_2 -HRP-TMB显色体系集成在纸芯片上,通过颜色变化实现葡萄糖定量检测。(2)四色(四个样品)调控:将葡萄糖与葡萄糖氧化酶反应产生的 H_2O_2 溶液装入青色墨盒,PB缓冲液、HRP、TMB分别装入黑色、黄色、洋红色墨盒,利用 Adobe Illustrator CS6软件改变CMYK值实现可控性打印,使 H_2O_2 -HRP-TMB显色体系集成在纸芯片上,通过颜色变化实现葡萄糖定量检测。

[0018] 5. 本发明的一种基于喷墨打印技术可控性制作纸基微流控芯片用于葡萄糖的定量检测的方法,依次包括如下步骤:

(1)PG-815、CL-816墨盒的改装

撬开墨盒盖子,用镊子夹出墨盒里的海绵,然后用清水冲洗残余的墨水,最后用小刀刮掉滤膜并将整个墨盒用清水充分清洗干净,即完成墨盒改装。

[0019] (2)血清样品的预处理

取适量血清样品于超滤管中,置于高速冷冻离心机(12000 r/min,4 °C,10 min)离心,去除大分子物质后取下层澄清溶液作为检测样品进行血糖测定。

[0020] (3)纸基微流控芯片上的葡萄糖定量检测

调控单个墨盒进行检测:将100 μ L葡萄糖氧化酶(501.40 U/ mL)加入2000 μ L超滤后的血清中,37 °C水浴10 min,将反应后的溶液装入改装后的黑色墨盒中。通过Adobe

Illustrator CS6软件中设置不同灰度值的实心圆斑(0 %、10 %、30 %、50 %和100 %),从而打印出由灰度值调控的梯度物质的量的葡萄糖。接着与滴涂的HRP-TMB结合,将显色体系集成在芯片上反应10 min,最后通过喷墨打印机扫描采集颜色变化图像,Image J 2X软件进行灰度分析与数据处理,定量检测葡萄糖。

[0021] 调控四个墨盒(四个样品)进行检测:将50 μ L葡萄糖氧化酶(501.40 U/ mL)加入1000 μ L超滤后的血清中,37 $^{\circ}$ C水浴10 min,然后将反应后的溶液装入改造后的青色墨盒中,将PB缓冲液、HRP、TMB分别装入改装后的黑色、黄色、洋红色墨盒,然后把A4滤纸放置在喷墨打印机的撑纸架上,通过Adobe Illustrator CS6软件同时调控四个墨盒的灰度与不透明度进行打印,显色后通过喷墨打印机扫描采集颜色变化图像,利用Image J 2X软件进行灰度分析与数据处理,定量检测葡萄糖。

[0022] 本发明的有益效果:

本发明提出了一种可控性制作纸基微流控芯片用于葡萄糖定量检测的方法。所述的可控性制作是利用能够调节CMYK的灰度和不透明度实现对液滴物质的量和位置的精准控制的喷墨打印技术完成的。本发明通过喷墨打印技术可控制作纸基微流控芯片,成功应用于葡萄糖标准溶液的定量检测和人体血清中葡萄糖的定量检测,精密度高,准确性好,灵敏度高,对糖尿病病症快速诊断,治疗评估,预后判断和及时控制病情发展具有十分重要的意义。

附图说明

[0023] 图1为本发明的一种基于喷墨打印技术可控性制作纸基微流控芯片用于定量检测葡萄糖的打印规律研究原理图。

[0024] 图2为本发明的一种基于喷墨打印技术可控性制作纸基微流控芯片用于定量检测葡萄糖的工作原理图。

[0025] 图3为本发明的一种基于喷墨打印技术可控性制作纸基微流控芯片用于定量检测葡萄糖的单色打印规律图。

[0026] 图4为本发明的一种基于喷墨打印技术可控性制作纸基微流控芯片用于定量检测葡萄糖的双色打印规律图。

[0027] 图5为本发明的一种基于喷墨打印技术可控性制作纸基微流控芯片用于定量检测葡萄糖的线性图。

具体实施方式

[0028] 为了使本发明要解决的技术问题、技术方案及有益效果更加清楚明白,以下结合实施例和附图,对本发明进行进一步详细说明。

[0029] 本发明所用的以滤纸为基底的纸基微流控芯片,为本领域常规技术,本发明所用的喷墨打印机为普通商用型的Cannon MP 288压电式喷墨打印机,为市售产品。

[0030] 本发明先以颜色墨水为模型,对喷墨打印机的打印规律进行研究,而后通过改装墨盒,可控性制作纸基微流控芯片,并成功应用于人体血清中葡萄糖的定量检测。如图1所示,本发明所述的一种基于喷墨打印技术可控性制作纸基微流控芯片用于定量检测葡萄糖的颜色打印规律的研究:以颜色墨水为模型,通过研究单色或双色在不透明度或灰度值调

控下的墨点规律;并对以上规律总结分析,归纳演绎出任意几种颜色任意比例配比的规律。如图2所示,本发明所述的一种基于喷墨打印技术可控性制作纸基微流控芯片用于定量检测葡萄糖的工作原理:利用喷墨打印技术具有精准控制墨滴、重复性高、可灵活设计图案等特性,结合易加工、微型化、便携化的纸基微流控芯片技术,及葡萄糖氧化酶能够专一地催化葡萄糖的反应的特点,将GOx-HRP-TMB-H₂O₂双酶显色体系通过喷墨打印可控集成在纸芯片上反应,显色后用喷墨打印机扫描成像,采集到的图像再通过Image J 2X软件进行灰度分析与数据处理,从而实现葡萄糖的定量检测。

[0031] 实施例1:

喷墨打印机单色打印规律研究步骤如下:

打印机打印时在颜色调配上可以有彩色打印(通过不透明度进行调控)和黑白打印(又称灰度打印,由灰度值调控)。

[0032] (1)单色打印规律研究—彩色打印模式

使用制图软件 Adobe Illustrator CS6,设计面积大小为0.25 mm²的小正方形,边框设置为无,里面分别填充黑、青、黄、洋红四种颜色,颜色按不透明度依次设置为10 %、20 %、30 %、40 %、50 %、100 %。为了便于肉眼观察,小正方形外均嵌套面积大小为9 mm²的只有外周黑色框架的正方形。然后用打印机采用标准模式的打印质量打印于普通A4打印纸上,置于显微镜下观察,用智能手机进行拍照记录。收集到的图片经Adobe Photoshop软件放大处理,整理并计算各种颜色的墨点个数,最后用Origin 8软件绘制成折线图。

[0033] (2)单色打印规律研究—黑白打印模式

设计一组小正方形,填充黑色,设置灰度值为10 %、20 %、30 %、40 %、50 %、100 %。其余操作同步骤(1)。

[0034] 如图3中A所示,彩色打印模式下的黑色在不透明度调控下实际为多种颜色墨点混合叠加而产生,其墨点杂乱,难以进行规律总结,也难以应用于实际,故不对不透明度下的黑色进行规律研究。如图3中B所示,当设置打印的不透明度或灰度值从10 %增至100 %,青色中的青色墨点、洋红色中的洋红色墨点、黄色中的黄色墨点和灰度打印模式下黑色中的黑色墨点分别随着不透明度或灰度值增加而有明显增加的趋势,说明不透明度或灰度值能够对单色起调控作用。

[0035] 实施例2:

喷墨打印机双色打印规律研究步骤如下:

由于黑色打印只有一种颜色,不列入两种颜色规律研究的范畴,这里只研究不透明度调控下的颜色规律。使用制图软件 Adobe Illustrator CS6,设计面积大小为0.25 mm²的小正方形,边框设置为无。因印刷中的颜色采用的是CMYK模式进行调配出来的,即青、洋红、黄、黑四种颜色按不同配比混合,故双色规律研究是在使用软件控制其中两种颜色为无的情况下,固定其中一种颜色,不断增加另一种颜色的不透明度来实现的。又因为黑色在不透明度调控下实际为多种颜色墨点混合叠加而产生,其墨点杂乱,难以进行规律总结,故黑色的不透明度设置为0,不列入两种颜色规律的研究范围。因此有青-洋红、青-黄、黄-青、黄-洋红、洋红-青、洋红-黄六组颜色组合,以青-洋红和青-黄为例,青色为被研究的颜色(目标色),洋红色和黄色为干扰色;黄-青和黄-洋红两组中,黄色为目标色,青色和洋红色为干扰色;洋红-青和洋红-黄两组种,洋红色为目标色,青色和黄色为干扰色,作为干扰色组。将这

些颜色分别填充进小正方形,被研究的目标色组设置不透明度为20 %、40 %、50 %,上述干扰色组设置不透明度为0 %、10 %、20 %、30 %、40 %。为了便于肉眼观察,小正方形外均嵌套面积大小为9 mm² 的只有外周黑色框架的正方形。然后用打印机采用标准模式的打印质量打印于普通A4打印纸上,置于显微镜下观察,用智能手机进行拍照记录。收集到的图片经Adobe Photoshop软件放大处理,整理并计算各种颜色的墨点个数,最后用Origin 8软件绘制成折线图。

[0036] 如图4中A青-洋红规律图所示,在控制黑色和黄色的不透明度为0%的情况下,控制青色(目标色)的不透明度为20 %、40 %、50 %,然后不断改变洋红色(干扰色)的不透明度,即0 %、10 %、20 %、30 %、40 %,对打印出来的颜色进行图像收集与数据处理,计算得出青色墨点个数的曲线图。从图中可以看出,在青色特定透明度下,青色墨点个数保持不变,不受洋红色(干扰色)透明度影响。同时,青色(目标色)透明度改变,青色墨点个数随之发生变化。如图4中B青-黄规律图所示,控制黑色和洋红色不透明度为0 %,固定特定不透明度的青色(目标色),改变黄色(干扰色)不透明度,得出与图4中A一致的结论。由此可总结出:在固定青色(目标色)不透明度时,任意配比洋红色或黄色(干扰色),青色(目标色)墨点个数保持恒定,从而可以实现青色(目标色)与任意一种颜色(干扰色)的同时可控性。在此基础上,将特定不透明度下的青色墨点个数与单色规律研究中相同不透明度下的青色墨点个数进行比较,发现两者个数一致,进一步验证了单色中青色可控的结论。

[0037] 同理,洋红-青(图4中C)、洋红-黄(图4中D)颜色规律图和黄-青(图4中E)、黄-洋红(图4中F)颜色规律图所示,表现出与青-洋红、青-黄一样的规律特征:在固定黑色和某一种颜色不透明度为0 %时,任意配比另外两种颜色,特定不透明度下的颜色的墨点个数保持恒定,不受其他颜色不透明度的影响。同样,特定不透明度下,洋红色和黄色墨点个数与单色规律研究中相同不透明度下的墨点个数一致。综上所述,青、洋红和黄三色(目标色)在特定不透明度下的墨点个数保持恒定,完全不受其他因素影响,可很好地应用于可控性研究。

[0038] 实施例3:

喷墨打印机多色打印规律研究与总结:

对双色规律中配比颜色的墨点个数进行计算,结合双色规律中得到的特定颜色不透明度的墨点个数以及单色规律中特定颜色不透明度的墨点个数,总结出如表1和表2所示颜色规律研究结果。如表1所示,以青色为例,在研究双色规律时,固定青色的不透明度时,青色墨点个数保持恒定,且青色墨点个数与单色规律研究中青色特定不透明度下的墨点个数保持一致。如表2所示,以青色为例,在研究双色规律时,固定青色的不透明度时,青色与任意不透明度下的洋红色或黄色配比,青色墨点个数保持恒定,即可实现青色与任意一种颜色的同时可控性。除此之外,以青色为例,对比表1、表2可以发现,在控制青色不透明度为20 %时,配比20 %黄色,其黄色墨点个数与单色规律研究中20 %黄色的黄色墨点个数相同;配比40 %黄色,其黄色墨点个数与单色规律研究中40 %黄色的黄色墨点个数相同;再分别配比20 %、40 %洋红色,其洋红色墨点个数分别与单色规律研究中20 %、40 %洋红色的洋红色墨点个数相同。

[0039] 表1

对照 \ 单色		青色		洋红色		黄色	
		20%	40%	20%	40%	20%	40%
双色	青色	(22 ^T , 20 ^S)					
	40%	(44 ^T , 45 ^S)					
洋红色	20%	(18 ^T , 17 ^S)					
	40%	(37 ^T , 38 ^S)					
黄色	20%	(13 ^T , 11 ^S)					
	40%	(28 ^T , 27 ^S)					

(注:T: 双色,S:单色)

表2

目标色 \ 干扰色	青色		目标色 \ 干扰色	洋红色		目标色 \ 干扰色	黄色	
	20%	40%		20%	40%		20%	40%
洋红色	0%	(0, 20) (0, 46)	青色	0%	(0, 21) (0, 37)	青色	0%	(0, 13) (0, 28)
	20%	(19, 20) (16, 46)		20%	(20, 17) (19, 38)		20%	(20, 11) (20, 28)
	40%	(39, 19) (37, 48)		40%	(45, 17) (46, 37)		40%	(46, 10) (46, 27)
黄色	0%	(0, 17) (0, 46)	黄色	0%	(0, 21) (0, 36)	洋红色	0%	(0, 13) (0, 27)
	20%	(11, 17) (10, 48)		20%	(13, 17) (14, 38)		20%	(20, 13) (21, 28)
	40%	(29, 16) (28, 47)		40%	(28, 22) (29, 37)		40%	(37, 14) (37, 28)

(注:数据第一个数为干扰色的颜色墨点个数,第二个数为目标色的颜色墨点个数)。

[0040] 因此,我们可以总结出:任意两种颜色以任意不透明度进行配比时,其实质就相当于这两种颜色分别以单独颜色个体进行配比,即两种颜色配比时不影响其中任何一种颜色的墨点个数。另外实验还证明三种及三种以上颜色配比时也是单种颜色以单独颜色个体进行配比,即三种及三种以上颜色也是可以实现同时可调控的。

[0041] 实施例4:

本发明的一种基于喷墨打印技术可控性制作纸基微流控芯片用于葡萄糖的定量检测的方法,依次包括如下步骤:

(1) PG-815黑色墨盒、CL-816彩色墨盒的改装

打开墨盒盖子,用镊子夹出墨盒里的海绵,然后用清水冲洗残余的墨水,去掉海绵并将整个墨盒用清水充分清洗干净,即完成墨盒改装,即将黑色墨盒的墨水槽去掉海绵后用清水充分清洗干净,将彩色墨盒有青色墨水槽、黄色墨水槽、洋红色墨水槽的三个槽的海绵去掉用清水充分清洗干净,然后备用。

[0042] (2) 血清样品的预处理

取适量血清样品于超滤管中,置于高速冷冻离心机(12000 r/min, 4 °C, 10 min)离心,去除大分子物质后取下层澄清溶液作为检测样品进行血糖测定。

[0043] (3) 调控单个墨盒进行葡萄糖的定量检测

调控单个墨盒进行纸基微流控芯片上的葡萄糖定量检测:本发明所述的纸基微流控芯片是以滤纸为基底的纸基微流控芯片,具体检测步骤为:配制一系列浓度的葡萄糖标准溶

液,将100 μL 葡萄糖氧化酶(501.40 U/ mL)加入到2000 μL 不同浓度葡萄糖标准溶液中,37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴10 min,反应后产生 H_2O_2 ,将反应后溶液装入改装好的黑色墨盒中。通过Adobe Illustrator CS6软件设置平行三组梯度灰度值的实心圆斑(0 %、10 %、30 %、50 %、100 %)打印出由灰度值调控的梯度物质的量的葡萄糖,然后滴涂辣根过氧化物酶-3,3',5,5'-四甲基联苯胺于纸基芯片表面,将显色体系集成在芯片上反应10 min,最后通过喷墨打印机的扫描功能扫描采集颜色变化图像,利用Image J 2X软件进行灰度分析与数据处理,定量检测葡萄糖。

[0044] (4) 调控四个墨盒进行葡萄糖的定量检测

调控四个墨盒进行纸基微流控芯片上的葡萄糖定量检测:配制一系列浓度的葡萄糖标准溶液,将50 μL 葡萄糖氧化酶(501.40 U/ mL)加入到1000 μL 不同浓度葡萄糖标准溶液中,37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴10 min,将反应后的溶液装入步骤(1)改装后的彩色墨盒的青色墨水槽中,将磷酸缓冲液(PB缓冲液)、辣根过氧化物酶(HRP)、3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)分别装入改装后的黑色墨盒、彩色墨盒的黄色墨水槽中、洋红色墨水槽中。通过Adobe Illustrator CS6软件设置平行三组梯度灰度值的实心圆斑(0 %、10 %、30 %、50 %、100 %)打印出由灰度值调控的梯度物质的量的葡萄糖,然后滴涂辣根过氧化物酶-3,3',5,5'-四甲基联苯胺(HRP-TMB)于纸基芯片表面,将显色体系集成在芯片上反应10 min,最后通过喷墨打印机的扫描功能扫描采集颜色变化图像,利用Image J 2X软件进行灰度分析与数据处理,定量检测葡萄糖。

[0045] 如图5中A所示,为调控单个墨盒进行葡萄糖定量检测图,随着葡萄糖浓度增加,显色强度逐渐增强。在2.5 mmol/L ~ 20 mmol/L浓度范围内,葡萄糖浓度(C)和显色强度(I)呈良好的线性关系,其线性方程为: $I = 2.6995 C + 1.4626, R^2 = 0.9973$ 。如图5中B所示,为同时调控四个墨盒进行葡萄糖定量检测图,随着葡萄糖浓度增加,显色强度逐渐增强。在2.5 mmol/L ~ 20 mmol/L浓度范围内,葡萄糖浓度(C)和显色强度(I)呈良好的线性关系,其线性方程为: $I = 3.2224 C + 19.3983, R^2 = 0.9307$ 。

[0046] 实施例5:

一种基于喷墨打印技术可控性制作纸基微流控芯片用于人体血清中葡萄糖的定量检测的方法,检测步骤如下:

调控实施例4改装的单个墨盒进行人体血清中葡萄糖的定量检测:将100 μL 葡萄糖氧化酶(501.40 U/ mL)加入2000 μL 实施例4中制得的超滤后的血清中,37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴10 min,将反应后的溶液装入实施例4步骤(1)改装后的黑色墨盒中。通过Adobe Illustrator CS6软件中设置不同灰度值的实心圆斑(0 %、10 %、30 %、50 %和100 %),从而打印出由灰度值调控的梯度物质的量的葡萄糖。接着与滴涂的HRP-TMB结合,将显色体系集成在芯片上反应10 min,最后通过喷墨打印机的扫描功能扫描采集颜色变化图像,Image J 2X软件进行灰度分析与数据处理,定量检测葡萄糖。

[0047] 调控四个墨盒进行人体血清中葡萄糖的定量检测:将50 μL 葡萄糖氧化酶(501.40 U/ mL)加入1000 μL 实施例4中制得的超滤后的血清中,37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴10 min,将反应后的溶液装入实施例4步骤(1)改装后的彩色墨盒中的青色墨水槽中,将PB缓冲液、HRP、TMB分别装入实施例4步骤(1)改装后的黑色墨盒、彩色墨盒中的黄色墨水槽、洋红色墨水槽中。通过Adobe Illustrator CS6软件设置平行三组梯度灰度值的实心圆斑(0 %、10 %、30 %、50 %、

100 %)打印出由灰度值调控的梯度物质的量的葡萄糖,然后滴涂辣根过氧化物酶-3,3',5,5'-四甲基联苯胺于纸基芯片表面,将显色体系集成在芯片上反应10 min,最后通过喷墨打印机的扫描功能扫描采集颜色变化图像,利用Image J 2X软件进行灰度分析与数据处理,定量检测人体血清中葡萄糖。

[0048] 表3所示为调控单个墨盒进行人体血清中葡萄糖定量检测的结果,计算所得检测结果RSD分别为1.563 %、3.901 %、2.302 %,表明该方法具有良好的精密度。将本法测定值与福建省省立医院生化检测仪检测结果进行比较,3组血清样品的检测结果与生化检测仪检测结果差异较小,能够用于实际人体血清中血糖含量的测定。

[0049] 表4所示为调控四个墨盒进行人体血清中葡萄糖定量检测的结果,计算所得检测结果RSD分别为5.366 %、2.337 %、1.970 %,表明该方法具有良好的精密度。将本法测定值与福建省省立医院生化检测仪检测结果进行比较,3组血清样品的检测结果与生化检测仪检测结果差异较小,能够用于实际人体血清中血糖含量的测定。

[0050] 表3

血清	此方法检测值(mmol/L)		生化检测仪
样品	平均值 (n=5)	RSD(%)	检测值(mmol/L)
1	3.01	1.563	2.95
2	5.20	3.901	4.96
3	14.54	2.302	14.73

表4

血清	此方法检测值(mmol/L)		生化检测仪
样品	平均值 (n=5)	RSD(%)	检测值(mmol/L)
1	3.433	5.366	3.60
2	5.571	2.337	5.11
3	11.049	1.970	10.50

[0051] 以上所述仅为本发明的较佳实施例而已,并不用以限制本发明,凡在本发明的精神和原则之内所作的任何修改,等同替换和改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。

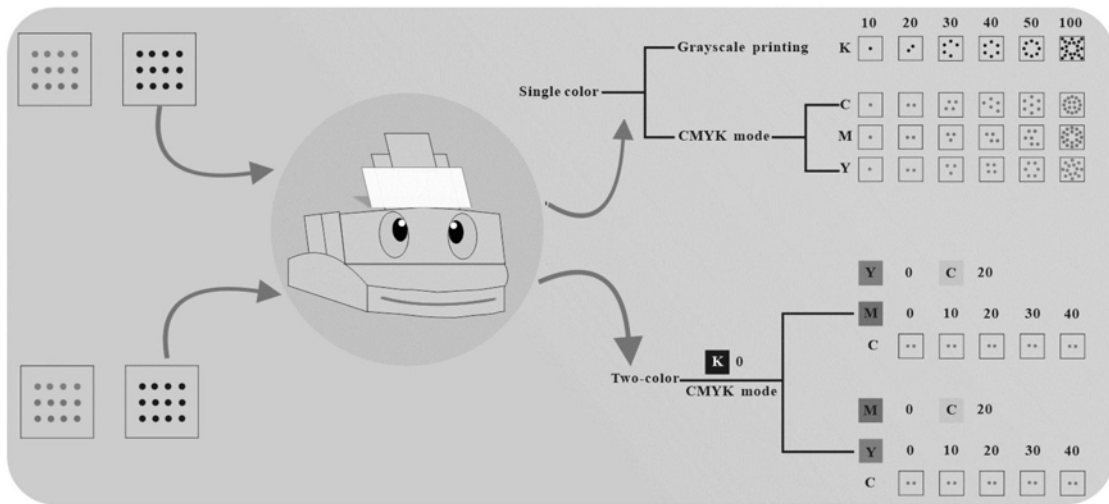


图1

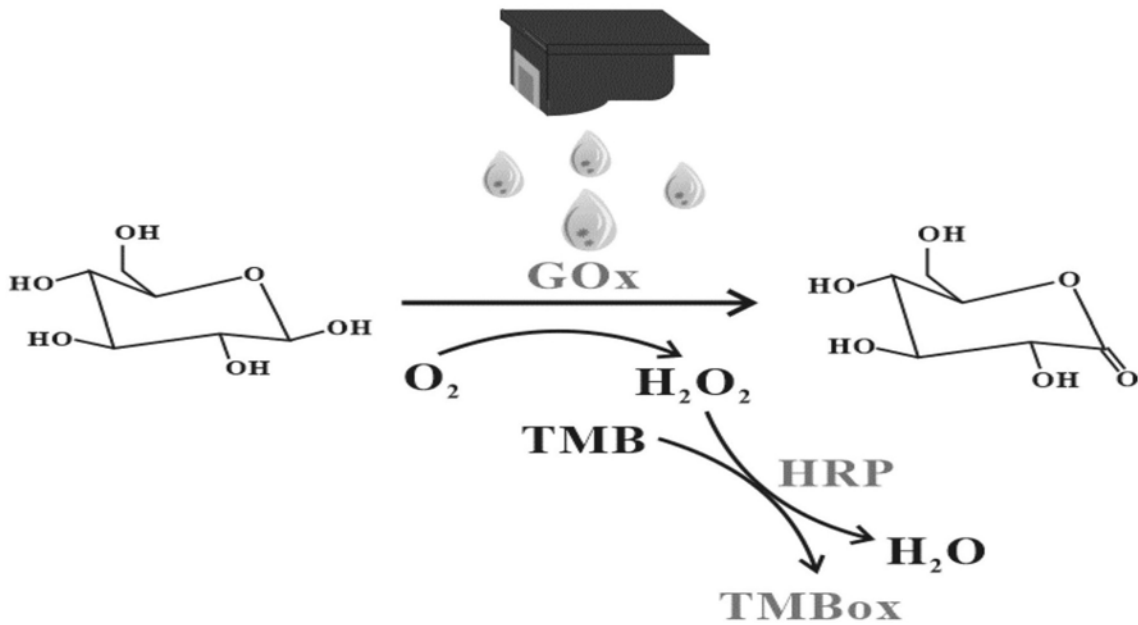


图2

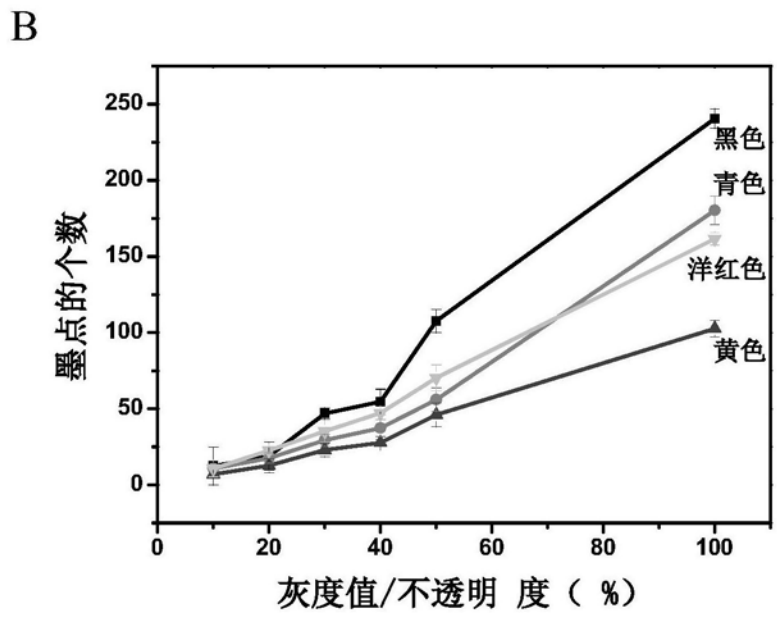
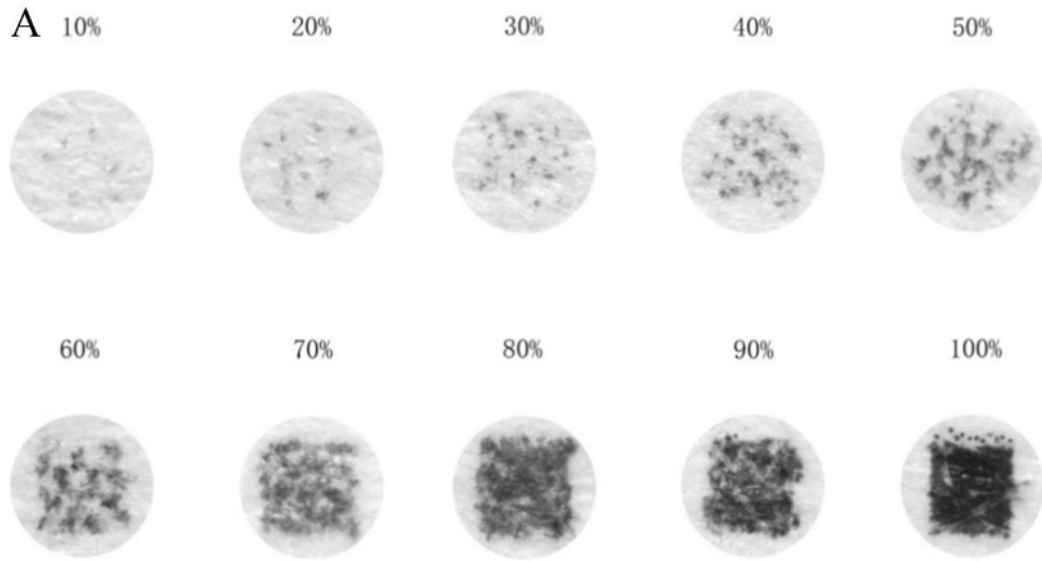
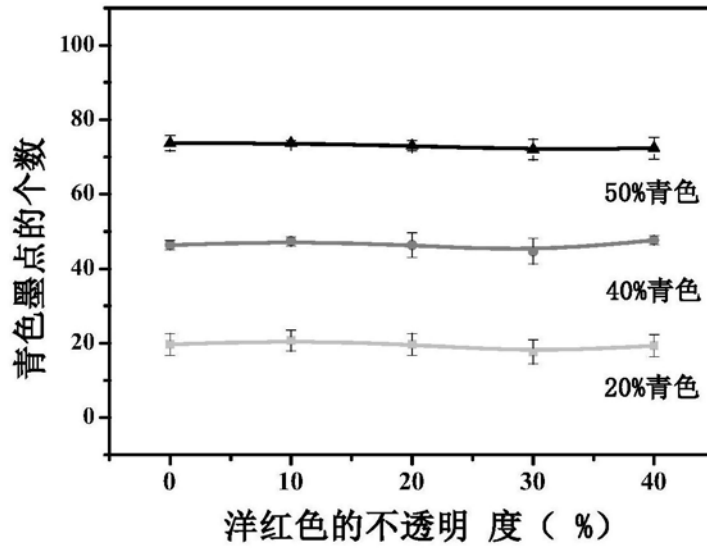
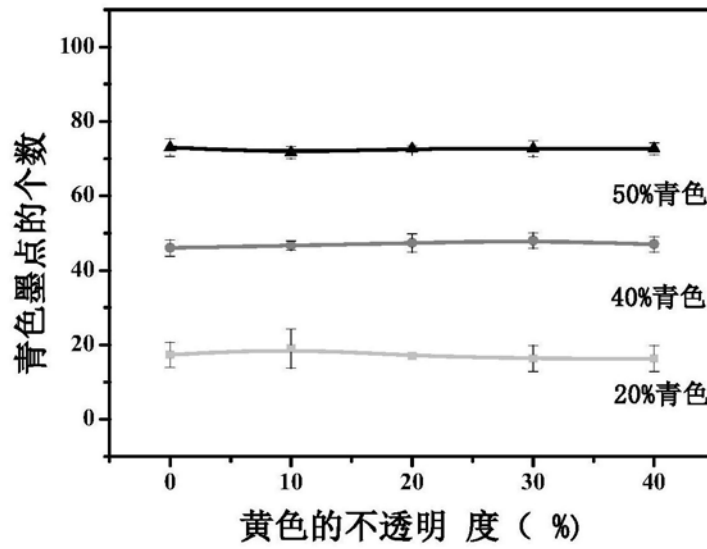


图3

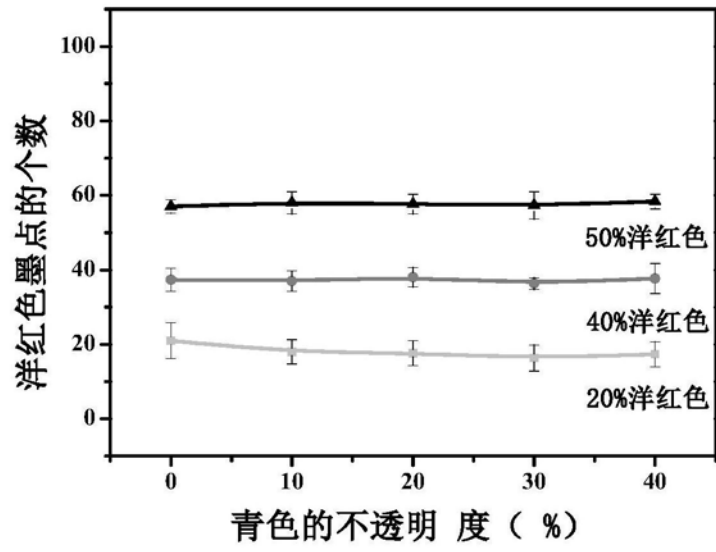
A



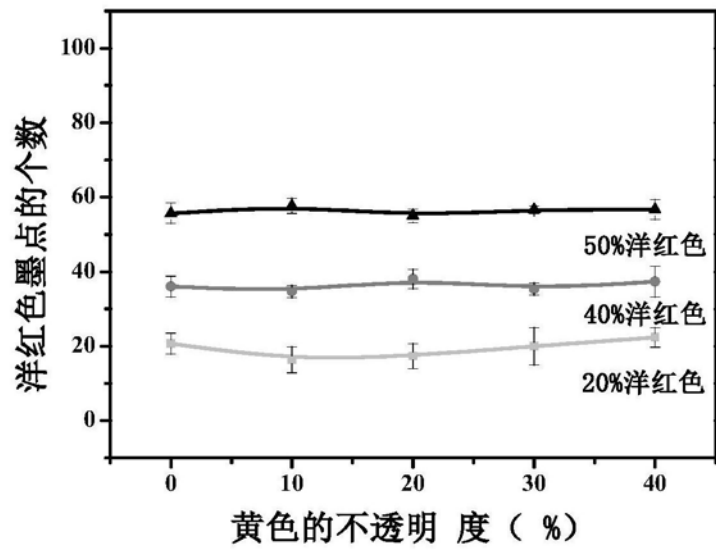
B



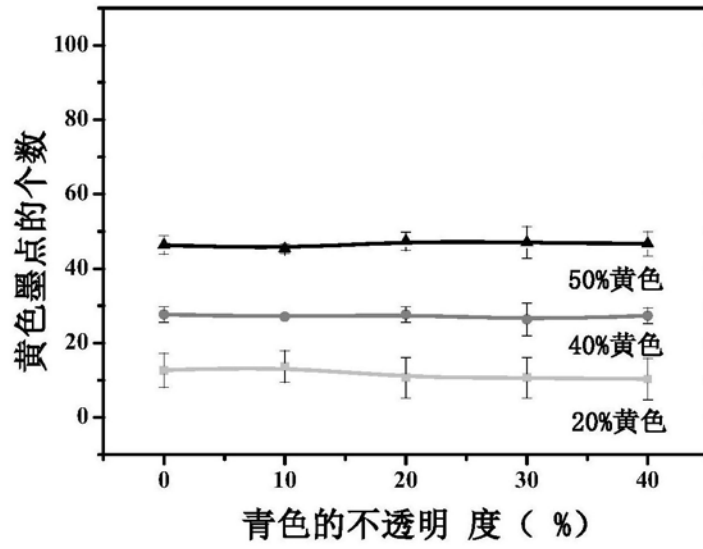
C



D



E



F

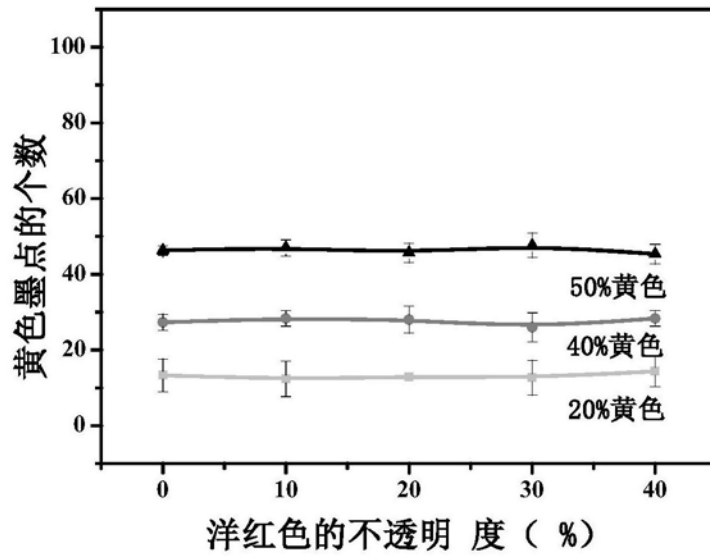


图4

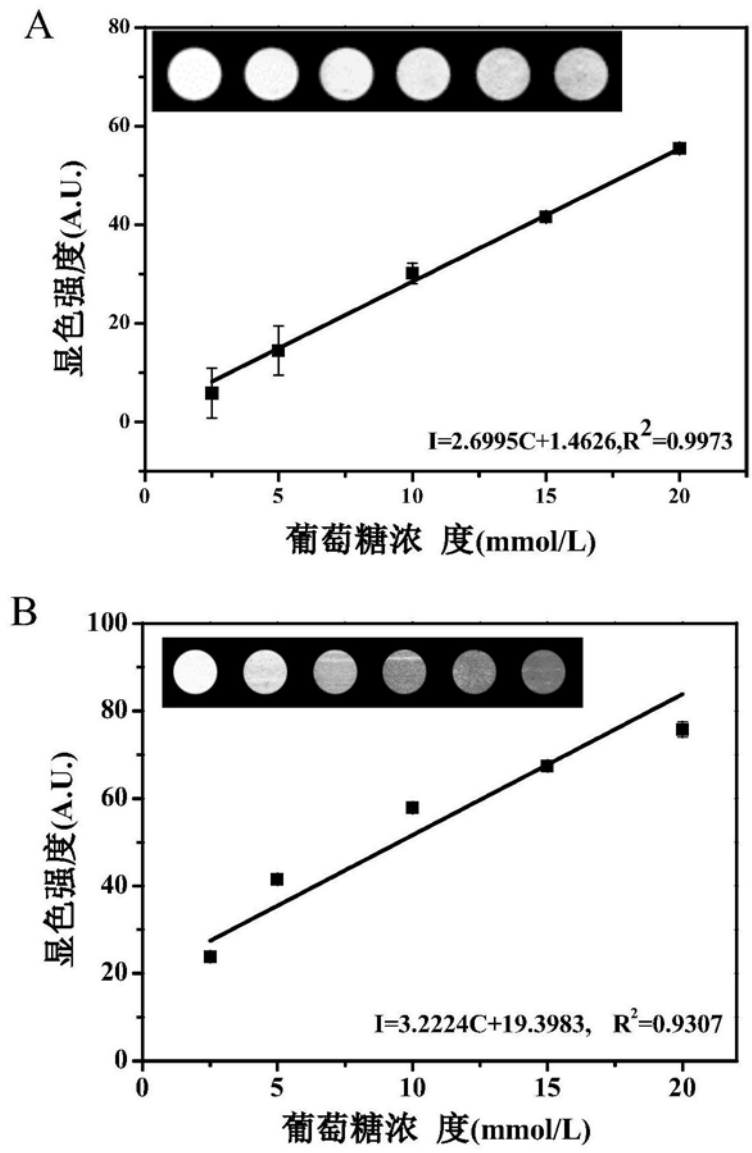


图5